

51

Int. Cl. 2:

G 01 N 21/52

19

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES PATENTAMT



DE 27 47 409 A 1

11

Offenlegungsschrift 27 47 409

21

Aktenzeichen: P 27 47 409.5

22

Anmeldetag: 21. 10. 77

43

Offenlegungstag: 27. 4. 78

31

Unionspriorität:

32 33 31

22. 10. 76 Schweden 7611787

54

Bezeichnung: Verfahren und Anordnung zum Analysieren von fluoreszierenden Stoffen

71

Anmelder: Eneroth, Peter, Solna; Wladimiroff, Wladimir, Uppsala (Schweden)

74

Vertreter: Strohschänk, H., Dipl.-Ing., Pat.-Anw., 8000 München

72

Erfinder: gleich Anmelder

BEST AVAILABLE COPY

DE 27 47 409 A 1

21.10.1977-SS(5)

309-1492P

Patentansprüche

1. Verfahren zum qualitativen und quantitativen Analysieren von fluoreszierenden Stoffen in einer gasförmigen, flüssigen oder festen Probe, bei dem der fluoreszierende Stoff mit einer impulsförmigen Anregungsstrahlung erregt und die Intensität der 5 dadurch ausgelösten Fluoreszenzemission bei einer oder mehreren Wellenlängen gemessen wird, dadurch gekennzeichnet, daß die Probe mit einer Anregungsstrahlung in Form von Impulsen mit einer Abklingzeit von weniger als einer Nanosekunde erregt wird und daß unter Verwendung eines Fluoreszenzstrahlungsde- 10 tektors und zeitlich gesteuerter Torschaltungen nur ein vorgegebbarer Teil des Fluoreszenzemissionsverlaufes für die Analyse ausgewählt und in Form elektrischer Signale an eine Auswerteeinheit weitergeleitet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für 15 die Analyse der Teil der Fluoreszenzemission ausgewählt wird, der zwischen dem Zeitpunkt, ab dem die Intensität der gestreuten Anregungsstrahlung klein wird gegenüber der Intensität der Fluoreszenzemissionsstrahlung, und dem Zeitpunkt, in dem das Ausgangssignal des Fluoreszenzstrahlungsdetektors auf einen 20 dem Rauschpegel des Meßsystems entsprechenden Wert abgesunken ist, am Fluoreszenzstrahlungsdetektor einfällt, während der übrige Teil der Fluoreszenzemission und das Rauschen sowohl vor als auch nach dem ausgewählten Teil des Fluoreszenzemissionsverlaufes mit Hilfe der zeitlich gesteuerten elektronischen

809817/0923

Torschaltungen für die Signalauswertung blockiert werden.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die zeitlich gesteuerten elektronischen Torschaltungen von elektrischen Steuerfolgen aus einer Steuerlogikeinheit gesteuert werden, die der Reihe nach mit Hilfe von Triggerimpulsen aus einem Bezugsstrahlungsdetektor getriggert wird, der einen vorbestimmten Anteil der Strahlung von der Anregungsstrahlungsquelle empfängt und diesen Anteil jedes Anregungsstrahlungsimpulses mit einem zeitlichen Vorsprung vor der Probe erhält, der so groß ist, daß er die in Torschaltungen und Steuerlogikeinheit enthaltene Signalverzögerung kompensiert.

4. Anordnung zum Durchführen des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Quelle für die Abgabe der Impulse der Anregungsstrahlung ein von radiofrequenten Störungen freier Stickstofflaser (1) in Kombination mit einem Farbstofflaser (2) vorgesehen ist und daß zwischen einem Fluoreszenzstrahlungsdetektor (7) und einer Auswerteeinheit (8, 10, 22) zeitlich gesteuerte elektronische Torschaltungen (9, 11) angeordnet sind, die nur einen vorgebbaren Teil des Ausgangssignals des Fluoreszenzstrahlungsdetektors (7) zur Auswerteeinheit (8, 10, 22) gelangen lassen und in ihrer Durchlässigkeit für dieses Ausgangssignal durch eine Steuerlogikeinheit (12) bestimmt werden, die von einem Bezugsstrahlungsdetektor (14) ein Triggersignal zugeführt erhält, das eine bestimmte Zeitspanne vorher abgegeben wird, bevor die Torschaltungen (9, 11) für das Ausgangssignal aus dem Fluoreszenzstrahlungsdetektor (7) durchlässig werden sollen.

5. Anordnung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der vorbestimmte Zeitunterschied zwischen dem Signal vom Bezugsstrahlungsdetektor (14) und dem Signal, das von den Torschaltungen (9, 11) gesteuert werden soll, dadurch erzeugt ist, daß das Signal, das von den Torschaltungen (9, 11) gesteuert werden soll, zuerst eine elektrische Verzögerungsleitung durch-

809817/0923

läuft, ehe es den Torschaltungen (9, 11) zugeführt wird.

6. Anordnung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der vorbestimmte Zeitunterschied zwischen dem Signal vom Bezugsstrahlungsdetektor (14) und dem Signal, das von den 5 Torschaltungen (9, 11) gesteuert werden soll, dadurch erzeugt ist, daß der Bezugsstrahlungsdetektor (14) in einer kurzen Entfernung von der Anregungsquelle (1, 2) angeordnet ist, während die fluoreszierende Probe (4) zusammen mit dem Fluoreszenzstrahlungsdetektor (7) eine große optische Weg- 10 länge von der Anregungsquelle (1, 2) entfernt angeordnet ist.

7. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die große optische Weglänge mit Hilfe von zwei oder mehreren Spiegeln erhalten ist, die derart angeordnet sind, daß die Anregungsstrahlung erst nach einer vorbestimmten Anzahl 15 von Reflexionen an diesen Spiegeln die Analyseprobe (4) erreicht, um diese zu erregen.

8. Anordnung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Ausgangsstufe der Auswerteeinheit aus zwei Signalintegratoren (10, 19), einem für das Fluoreszenzemissionssignal 20 und einem für das Bezugsstrahlungssignal, sowie aus einer Divisionseinheit (23) besteht, die den Quotienten aus dem Fluoreszenzstrahlungssignal und dem Bezugsstrahlungssignal bildet.

21.10.1977-SS(5)

309-1492P

Peter Eneroth, 22, Framnäsbacken, S-171 42 Solna (Schweden)
und
Wladimir Wladimiroff, 43B, St.Olofsgatan, S-753 30 Uppsala
----- (Schweden) -----

Verfahren und Anordnung zum Analysieren
von fluoreszierenden Stoffen

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zum qualitativen und quantitativen Analysieren von fluoreszierenden Stoffen in einer gasförmigen, flüssigen oder festen Probe mit im Oberbegriff des Patentanspruches 1 angegebenen Merkmalen sowie auf 5 eine Anordnung zum Durchführen dieses Verfahrens.

Die Analyse erfolgt durch Messung der Intensität der Fluoreszenzemission als Funktion der Wellenlänge, nachdem der fluoreszierende Stoff zuerst angeregt wurde.

Die Wellenlängenverteilung im Spektrum der Fluoreszenzemission 10 einer fluoreszierenden Probe wird durch die chemische Zusammensetzung der Probe sowie durch ihren Phasenzustand bestimmt. Nach ihrer Anregung hat die Fluoreszenzemission gewöhnlich eine Dauer der Größenordnung einiger Nanosekunden. Das Abklingen der Fluoreszenzemission ist ebenfalls von der chemischen Zusammensetzung 15 der Probe und von deren Phasenzustand abhängig.

Da die Intensität der Fluoreszenzemission eines fluoreszierenden Stoffes in einer Probe linear proportional zur Konzen-

809817/0923

tration des fluoreszierenden Stoffes ist, mißt man in bekannten Analyseinstrumenten die Intensität der Fluoreszenzemission zur Bestimmung der Konzentration von fluoreszierenden Stoffen in der Probe. Wenn eine qualitative Analyse des Stoffes verlangt wird, ermittelt man auch die Wellenlängenverteilung im Spektrum der Fluoreszenzemission. Dies erfolgt entweder dadurch, daß man die Probe mit der Strahlung einer kontinuierlichen Strahlungsquelle wie einer Hochdruck-Xenonlampe oder einer Impulse abgebenden Strahlungsquelle, wie einer Blitzlampe beleuchtet. 5
10 Dabei wird die Strahlung von der Anregungsquelle einem ersten Monochromator A zugeführt, der nur die vorbestimmte Anregungswellenlänge passieren läßt, und danach zum Auftreffen auf die Probe gebracht. Die dabei entstehende Fluoreszenzemissionsstrahlung wird dann einem zweiten Monochromator B zugeführt, der 15
einen vorbestimmten Teil der Fluoreszenzstrahlung auf einen Fluoreszenzstrahlungsdetektor treffen läßt.

Die Wellenlängeneinstellung der beiden Monochromatoren ist vorzugsweise derart, daß die Strahlung, die durch den ersten Monochromator A passieren soll, nicht durch den zweiten Monochromator B passieren kann, so daß der Fluoreszenzstrahlungsdetektor, der somit die Intensität der Fluoreszenzemission messen soll, nicht Strahlung ausgesetzt wird, die von der Anregungsquelle herrührt. Auch die besten Monochromatoren haben aber noch eine gewisse vernachlässigbare Durchlässigkeit für 20
Strahlung einer anderen Wellenlänge als die eingestellte, wodurch sie Störstrahlung (Störlicht) durchlassen. Die Empfindlichkeit der bekannten Fluoreszenzspektrophotometer ist deshalb begrenzt, und dies ist hauptsächlich darauf zurückzuführen, daß alle fluoreszierenden Proben die Anregungsstrahlung 25
(die die Fluoreszenz der Probe verursacht) nicht nur absorbieren, sondern sie auch streuen. Da der zweite Monochromator B somit in der Form von Störstrahlung einen Teil der gestreuten Anregungsstrahlung mehr oder weniger unabhängig von der eingestellten Wellenlänge durchläßt, erreicht bei bekannten Anordnun-

gen immer ein gewisser Teil der Anregungsstrahlung auch den Fluoreszenzstrahlungsdetektor. Wenn die Konzentration des fluoreszierenden Stoffes in der Probe so niedrig ist, daß die Intensität der Fluoreszenzemission geringer ist als die Intensität des Teils der Anregungsstrahlung, der den Detektor erreicht, kann die Fluoreszenzemission in diesen bekannten Instrumenten nicht bestimmt werden. Das Streuvermögen der Moleküle nimmt mit zunehmender Molekülgröße zu, und die Empfindlichkeit bei Messungen der Fluoreszenzemission von biologischen Systemen wie Proteinen und lebenden Geweben wird somit durch die Lichtstreuung stark behindert.

Fluoreszenzmessungen sind aber von zentraler Bedeutung, wenn es sich um das Aufdecken biochemischer Aspekte von Krankheitszuständen handelt, und der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, einen Weg aufzuzeigen, auf dem sich Begrenzungen in der Empfindlichkeit, wie sie die bekannten Fluoreszenzspektrophotometer zeigen, vermeiden und damit bisher nicht erfaßbare Mengen an fluoreszenter Substanz analysieren lassen.

Die gestellte Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren, wie es im Patentanspruch 1 angegeben ist. Eine für die Durchführung eines solchen Verfahrens bevorzugte Anordnung ist im Patentanspruch 4 definiert. Im übrigen sind vorteilhafte Ausgestaltungen und Weiterbildungen in weiteren Unteransprüchen gekennzeichnet.

Vorzugsweise läßt man im Rahmen der Erfindung den Teil der Strahlung, der den Fluoreszenzstrahlungsdetektor während der Zeitintervalle erreicht, wenn die Anregung selbst stattfindet, und der dabei zu einem nicht unwesentlichen Teil aus gestreuter Anregungsstrahlung besteht, mit Hilfe der elektronischen Tor-schaltungen signalmäßig blockieren, bis der Anteil an gestreuter Anregungsstrahlung wesentlich unter dem Niveau der Fluores-

zenzmissionsstrahlung liegt. Danach läßt man das Detektor-
signal zur Auswerteeinheit gelangen. Wenn dann das Signalni-
veau bis auf einen Wert gesunken ist, der der ungefähren
Größe des Rauschpegels des Systems entspricht, wird das Sig-
5 nal wieder mit Hilfe der elektronischen Torschaltungen ge-
sperrt.

Die elektronischen Torschaltungen werden dabei von elek-
trischen Steuersequenzen aus einer Steuerlogikeinheit ge-
steuert, die mit Hilfe von Kontrollimpulsen getriggert wird,
10 die von einem Bezugsstrahlungsdetektor erhalten werden, der
seinerseits einen vorbestimmten Teil der Strahlung empfängt,
die die Analyseprobe anregt.

Die Signale vom Bezugsstrahlungsdetektor werden auch der
Auswerteeinheit zugeführt, um die Einwirkung auf das Analyse-
15 resultat zu eliminieren, die Intensitätsvariationen der Anre-
gungsstrahlung sonst ergeben könnten.

Ein Ausführungsbeispiel für das Verfahren gemäß der vorlie-
genden Erfindung ist in der Zeichnung veranschaulicht; dabei
zeigen:

- 20 Fig. 1 ein Beispiel für ein Absorptionsspektrum (a)
und ein Fluoreszenzemissionsspektrum (e) einer
typischen fluoreszierenden Verbindung F;
- Fig. 2 die Abklingkurve der Fluoreszenzstrahlungsinten-
sität als Funktion der Zeit für einige denkbare
25 fluoreszierende Verbindungen F, G, H und I, die
durch Strahlungsimpulse mit einer Abklingzeit
von 0,3 Nanosekunden angeregt wurden;
- Fig. 3A und 3B den Startzeitpunkt (t_1) und den Schluß-
zeitpunkt (t_2) einer Steuersequenz zur Steuerung
30 eines Fluoreszenzstrahlungsdetektorsignals, das
auf den Zeitpunkt (t_0) bezogen ist, in dem der
Impuls der Anregungsstrahlung erfolgt (in Fig. 3A
ist die Maximalintensität der Fluoreszenzemission
von derselben Größenordnung wie die Maximalinten-
sität des gestreuten Anregungsstrahlungsimpulses,
35 während in Fig. 3B die Maximalintensität der Fluo-

reszenzemission erheblich niedriger ist als die Maximalintensität des gestreuten Anregungsstrahlungsimpulses);

- 5 Fig. 4 eine schematische Funktionsbeschreibung des Prinzips eines Meßsystems gemäß der vorliegenden Erfindung und
- 10 Fig. 5 die Intensität als Funktion der Zeit für einen typischen Laserimpuls, wie er gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung bei Erregung der Probe erscheinen soll.

Nachstehend wird sowohl das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung als auch eine Anordnung zum Durchführen desselben näher beschrieben.

Betrachtet sei eine fluoreszierende Probe F mit einem Absorptionsspektrum (a) im Wellenlängenbereich λ_A und einem Fluoreszenzemissionsspektrum (e) im Wellenlängenbereich λ_B gemäß Fig. 1. Bei Erregung der Probe mit einem Strahlungsimpuls mit der Wellenlänge λ_A und einer Abklingzeit, die wesentlich kürzer ist als die Fluoreszenzabklingzeit der Probe, kann man den Intensitätsabklingverlauf der Fluoreszenzemission bei der Wellenlänge λ_B registrieren.

Fig. 2 zeigt eine Anzahl typischer Fluoreszenzabklingkurven verschiedener Proben, wie diese im Laboratorium registriert wurden. Hierbei wurde ein Stickstofflaser in Kombination mit einem Farbstofflaser als Anregungsquelle verwendet, der Impulse mit einer Abklingzeit von etwa 0,3 Nanosekunden abgibt.

Die an der Probe gestreute Anregungsstrahlung hat eine Abklingzeit, die mit dem Abklingen der Anregungsstrahlungsimpulse identisch und isochron ist. Dies hat zur Folge (siehe Fig. 3), daß dann, wenn die Erfassung der Fluoreszenzemission der Probe für z.B. λ_B zur Zeit t_1 beginnt (wenn die Intensität des Anregungsstrahlungsimpulses bis auf ein Niveau abgeklungen ist, das wesentlich niedriger liegt als das Niveau der Fluoreszenzintensität), nur ein sehr geringer Teil der gestreuten

- Strahlung mit der Wellenlänge λ_A vom Fluoreszenzstrahlungsdetektor registriert werden kann. Der Anteil an gestreuter Anregungsstrahlung ist am größten zur Zeit t_1 , nimmt aber zeitlich sehr schnell ab und kann daher ganz vernachlässigbar gemacht werden. Zur Zeit t_2 ist die Intensität der Fluoreszenzemission bei λ_B bis auf ein Niveau abgeklungen, das so niedrig ist, daß das Ausgangssignalniveau des Detektors mit dem Rauschpegel des detektierten Systems vergleichbar wird, weshalb die Signalerfassung zur Zeit t_2 beendet wird.
- 10 Es bringt zwei Vorteile, die Erfassung der Fluoreszenzemissionsintensität in dieser Weise vorzunehmen: erstens stört nicht die gestreute Anregungsstrahlung die Messung der Fluoreszenzemissionsintensität, zweitens kommt nur ein Minimum an Rauschen bei der eigentlichen Messung mit.
- 15 Ein Beispiel für eine Anordnung zum Durchführen des erfindungsgemäßen Verfahrens ist in Fig. 4 gezeigt. Eine Anregungsstrahlungsquelle zur Erregung einer Probe 4 besteht vorzugsweise aus einem Strahlungspulse abgebenden Stickstofflaser 1, der frei von hochfrequenten oder radiofrequenten Störungen
- 20 ist, in Kombination mit einem Farbstofflaser 2. Diese Anregungsstrahlungsquelle 1, 2 gibt Strahlungsimpulse 3 mit einer Spitzenleistung von mindestens 1 kW und mit einer Abklingzeit von höchstens einer Nanosekunde in einem Wellenlängenbereich veränderlicher Breite und Lage ab. Fig. 5 zeigt die Intensität als Funktion der Zeit für typische Laserstrahlungsimpulse
- 25 aus einer solchen Laserkombination 1, 2. Andere Strahlungsimpulse abgebende Lasersysteme können ebenso verwendet werden, aber es ist notwendig, daß die Bedingung, daß die Laserfunktion frei von Radiofrequenzstörungen ist, erfüllt ist, so daß die
- 30 angeschlossene Elektronik nicht gestört wird.

Die Wiederholungsfrequenz für die Anregungsstrahlungsimpulse liegt gewöhnlich zwischen 20 und 100 Hz, sie kann aber auch höher sein. Die Abstimmbarkeit in der Wellenlänge soll mindestens

den Spektralbereich von 350 bis 700 nm überdecken und die spektrale Bandbreite der Anregungsstrahlungsimpulse soll über mindestens 1 bis 20 nm ebenso wie Teile von nm variierbar sein. Die Strahlungsimpulse 3 erregen die Probe 4, die sich 5 in einer Zelle 5 befindet.

Die Fluoreszenzmissionsstrahlung der Probe 4 wird einem Monochromator 6 zugeführt, der dem vorerwähnten Monochromator B entspricht. Der vorerwähnte Monochromator A ist in einer Anordnung gemäß der vorliegenden Erfindung überflüssig, da die 10 Laserstrahlungsquelle Strahlung von kontinuierlich variierbarer Wellenlänge abgeben kann.

Der Monochromator 6 ist entweder auf eine feste Wellenlänge λ_B eingestellt oder darf das ganze oder einen Teil des Fluoreszenzanregungsspektrums der Probe 4 durchlaufen. Dabei ist 15 es möglich, erstens das Fluoreszenzanregungsspektrum der Probe dadurch zu registrieren, daß bei einer festen Monochromatorwellenlänge λ_B die erregte Wellenlänge der Laserstrahlung das Absorptionsspektrum der Probe durchläuft, zweitens das Fluoreszenzemissionsspektrum der Probe dadurch zu registrie- 20 ren, daß bei fester erregender Laserstrahlungswellenlänge λ_A der Monochromator 6 das Fluoreszenzemissionsspektrum der Probe durchläuft und drittens die Konzentration des fluoreszierenden Stoffes in der Probe dadurch zu bestimmen, daß die Intensität der Fluoreszenzemission bei festem λ_A und λ_B gemessen wird.

25 Der Teil der Fluoreszenzstrahlung, der durch den Monochromator 6 hindurchgeht, trifft auf einen schnellen Fluoreszenzstrahlungsdetektor 7, der eine Anstiegszeit hat, die mit der Abklingzeit der Impulse der Anregungsstrahlung vergleichbar ist.

30 Jedesmal, wenn ein anregender Strahlungsimpuls die Probe 4 getroffen hat, wird das Signal vom Fluoreszenzstrahlungsde-

tektor 7 über eine schnelle Torschaltung 9 einem Signalintegrator 8 eingespeist. Die schnelle Torschaltung 9 wird von einer Steuereinheit 12 so gesteuert, daß das Signal vom Detektor 7 dem Integrator 8 nur im Zeitintervall zwischen t_1 und t_2 (siehe Fig. 3) zugeführt wird. Die Spannung, die dabei im Signalintegrator 8 aufgebaut wird, wird zu einer Signal-speichereinheit 10 über eine Torschaltung 11 überführt, die ebenfalls von der Steuereinheit 12 gesteuert wird.

Die Steuereinheit 12 wird von einem elektrischen Triggerimpuls 13 getriggert, der die Gattersteuersequenz für die Torschaltung 9 startet. Dieser Triggerimpuls 13 wird von einem schnellen Bezugsstrahlungsdetektor 14 erhalten, dem ein vorbestimmter Anteil der Strahlung von der Laserkombination 1, 2 mit Hilfe von einem Strahlteiler 15 zugeführt wird.

Der Strahlteiler 15 und der Bezugsstrahlungsdetektor 14 sind derart angeordnet, daß der Bezugsimpuls einen kürzeren Weg zum Bezugsstrahlungsdetektor zu durchlaufen hat als der Anregungsimpuls zur Probe 4 und daher den Bezugsstrahlungsdetektor 14 eher erreicht als der anregende Strahlungsimpuls 3 der Probe 4. Auf diese Weise wird durch Einstellung eines Abstandes ein einfacher einstellbarer Zeitunterschied eingeführt, der der Aktivierungszeit in der Steuereinheit 12 für die Erzeugung der Steuersequenz zur Steuerung der Torschaltung 9 entspricht.

Da die Intensität jedes anregenden Strahlungsimpulses 3 von der Wellenlänge abhängig ist und die Anregungswellenlänge variierbar sein muß, damit man verschiedene Proben 4 zu maximaler Fluoreszenzemissionsintensität anregen kann, wird nicht nur die zeitliche Lage des anregenden Strahlungsimpulses 3 registriert sondern auch dessen Intensität mit Hilfe des schnellen Bezugsstrahlungsdetektors 14.

Das vom Bezugsstrahlungsdetektor 14 abgegebene Signal, das

zur Intensität des Anregungsimpulses 3 proportional ist, wird über eine Torschaltung 16 einem Bezugssignalintegrator 17 zugeführt. Das elektrische Startsignal 18 zum Starten der Gattersequenz, die die Torschaltung 16 steuert, wird von 5 einem Impulskreis im Laser 1 abgenommen, und es erreicht die Steuereinheit 12, ehe der anregende Strahlungsimpuls 3 von der Laserkombination 1, 2 erzeugt wird.

Die Spannung, die im Bezugssignalintegrator 17 aufgebaut wird, wird über eine Torschaltung 20 einer Bezugssignalspei- 10 chereinheit 19 zugeführt. Die beiden Torschaltungen 11 und 20 können gleichzeitig von der Steuereinheit 12 aktiviert werden, wenn die Signal- bzw. Bezugssignalintegratoren 8 und 17 nach jedem Anregungsimpuls fertig integriert haben, d.h. sogleich nach dem Zeitpunkt t_2 .

15 Das Signal von einem Verstärker 22, der an die Signalspeichereinheit 10 angeschlossen ist, repräsentiert die Fluoreszenzintensität der Probe 4, während das Signal von einem Verstärker 21, der an die Bezugssignalspeichereinheit 19 angeschlossen ist, die Intensität der anregenden Strahlungsimpul- 20 se repräsentiert. Beide Signale werden einer Divisionseinheit 23 zugeführt, deren Ausgangssignal die relative Fluoreszenzintensität der Probe 4 darstellt.

Dieses Signal ist somit von der Intensität der anregenden Strahlungsimpulse 3 unabhängig. Von der Divisionseinheit 23 25 wird das Signal einem Analog-Digital-Umsetzer 24 zugeführt, der ein digitales Ausgangssignal abgibt, was weitere Bearbeitung, Darstellung und administrative Behandlung des Meßresultates ermöglicht.

Die Wellenlängeneinstellung kann sowohl am Farbstoffla- 30 ser 2 als auch am Monochromator 6 mit Hilfe von Schrittmotoren

erfolgen, so daß die Wellenlängeneinstellung und die Kontrolle sowohl von λ_A als auch von λ_B von einem Computer ausgeführt werden können.

Die Laserkombination 1, 2, die Probe 4, der Monochromator 6 und die beiden Strahlungsdetektoren 7 und 14 sind in einem lichtdichten Kasten 25 angeordnet, was Störungen der Meßresultate durch äußeres Licht verhindert und die Handhabung des Apparates unter gewöhnlichen Laboratoriumsverhältnissen vereinfacht.

Patentansprüche

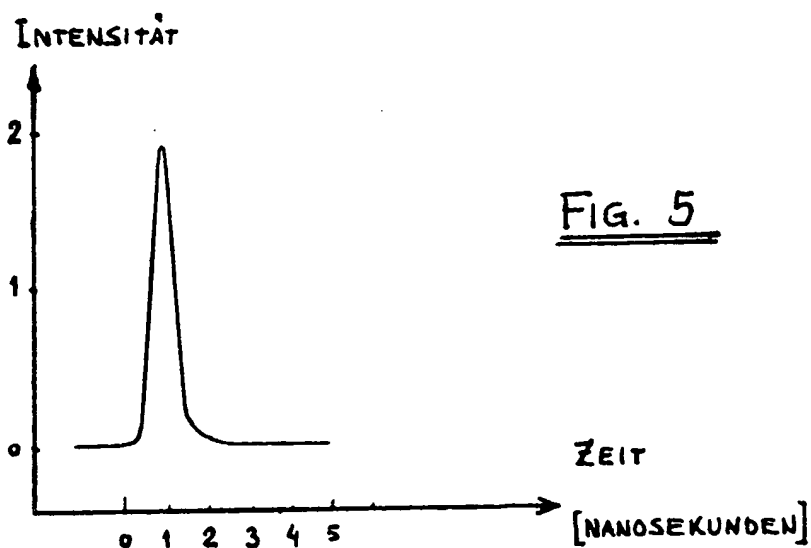
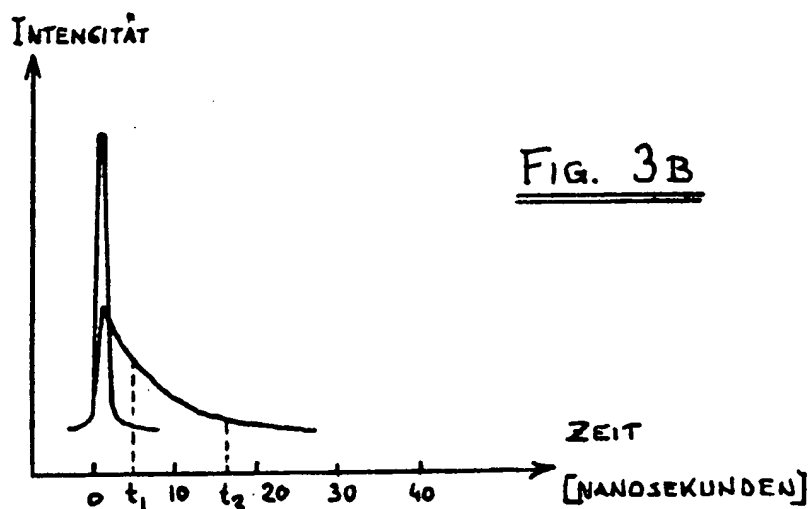
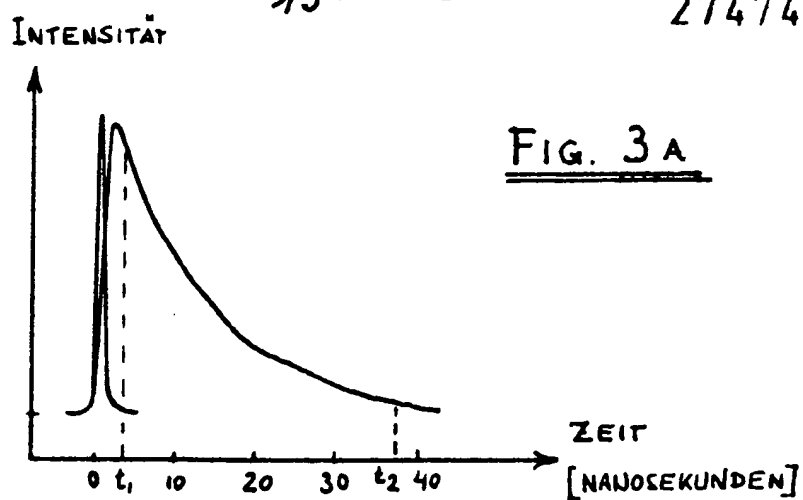
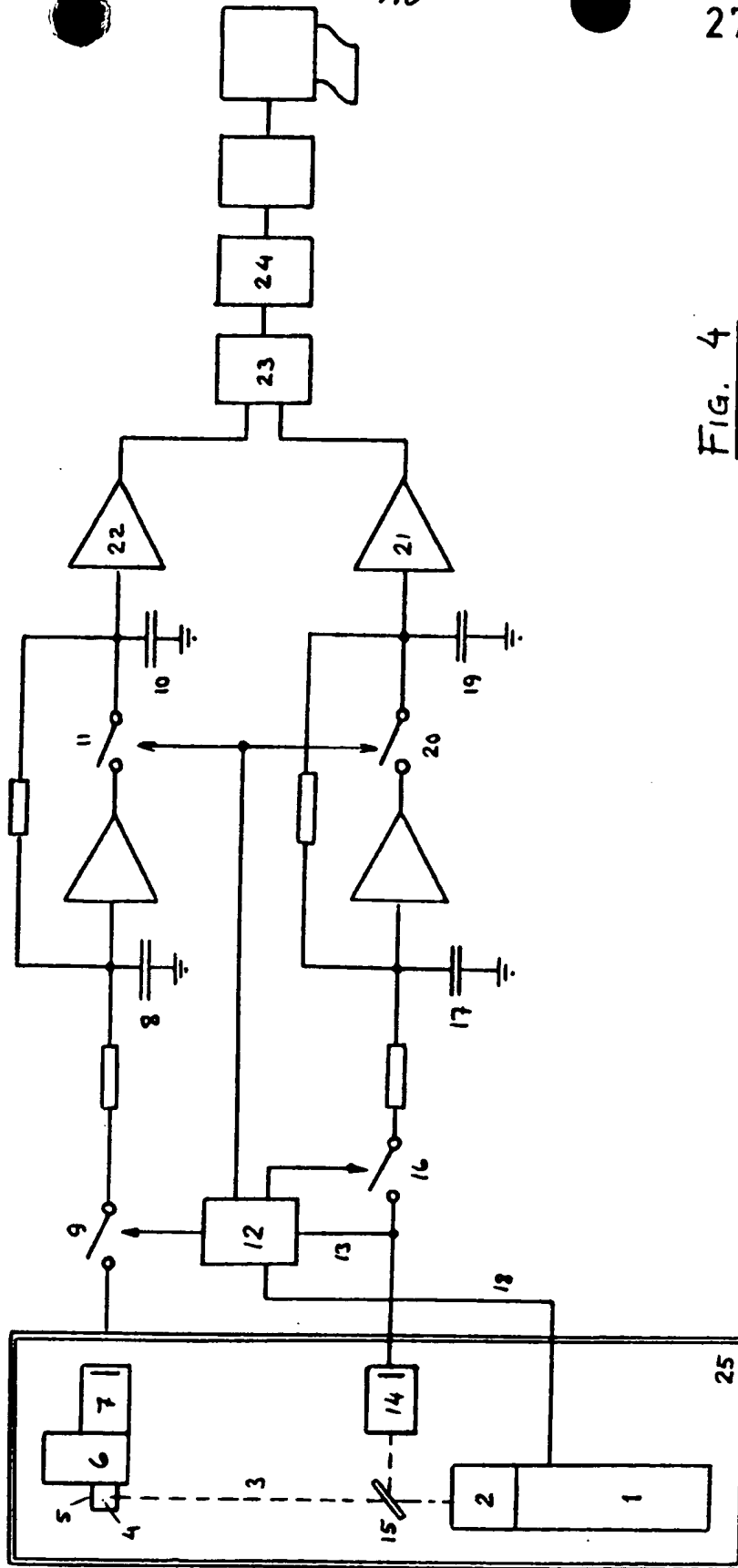


Fig. 4



NORMALISIERTE -17-
INTENSITÄT

Nummer:

Cl.2:

Erfindungsdatum:

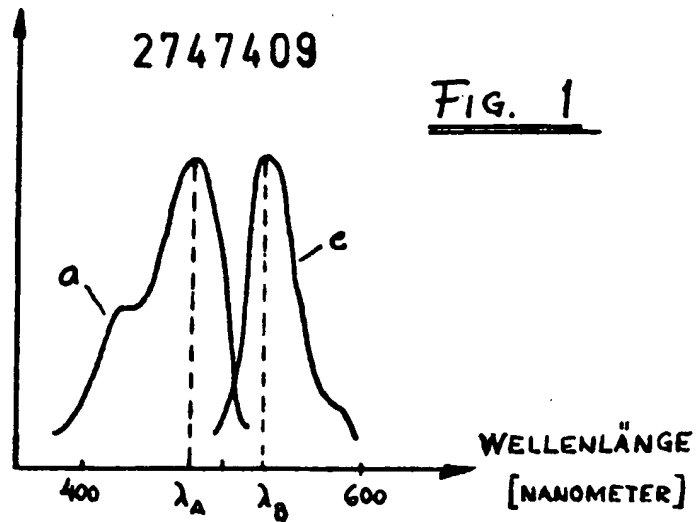
Offenlegungstag:

27 47 409

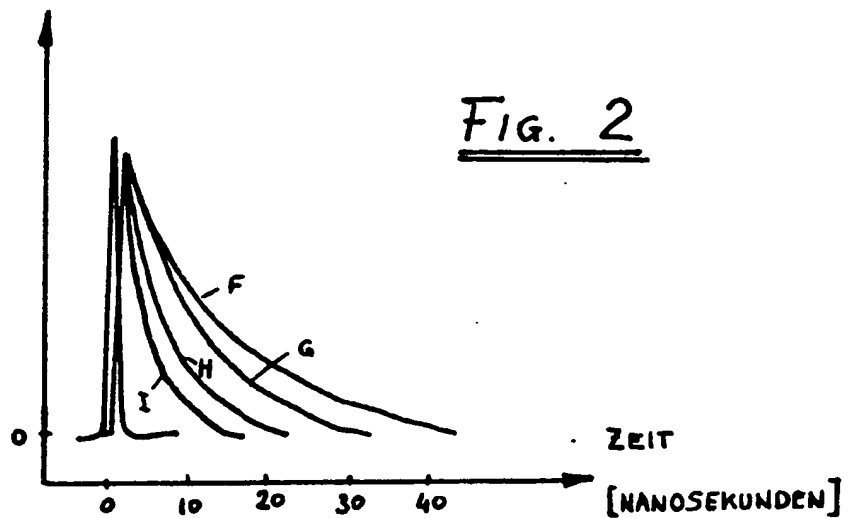
G 01 N 21/52

21. Oktober 1977

27. April 1978



NORMALISIERTE
INTENSITÄT



809817/0923

309-1492P

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.